

УДК 619:616.98:579.842

**ВИЗНАЧЕННЯ ТЕРМОРЕЗИСТЕНТНОСТІ КУЛЬТУР
STAPHYLOCOCCUS AUREUS ІЗОЛЬОВАНИХ З МОЛОКА ТА
МОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ**

Тімченко О.В.

Полтавська державна аграрна академія

У статті наведені результати бактеріологічних досліджень сирого молока та молочних продуктів з метою виділення культур Staphylococcus aureus із патогенними властивостями та визначення їх резистентності до високих температур. Результати досліджень вказують, що найвища точка температури на водяній бані, до якої виявились стійкі культури патогенних стафілококів - 1,4 %, це 95⁰ С протягом 10 хв. у них збереглися три властивості патогенності з п'яти.

Ключові слова: молоко, молочні продукти, Staphylococcus aureus

Вступ. Серед харчових токсикоінфекцій зустрічаються захворювання стафілококової етіології [11]. Стафілококові харчові отруєння – найбільш типові бактеріальні токсикози і вони зустрічаються не рідше ніж сальмонельози [1, 12]. Стафілококові токсикози складають приблизно 1/3 гострих отруєнь і тому їх називають чумою ХХ ст., а тепер уже і ХХІ ст., або стафілококовим лихом [5, 9].

Карташова В.М. (1973) відмітила, що молоку та молочним продуктам присвоєне перше місце серед стафілококових токсикозів. Стафілококові токсикози людей частіше відбуваються через вживання молочних продуктів - твердого і м'якого сиру, сметани, морозива тощо, коли молоко під час переробки зазнає вторинного обсіменіння Staphylococcus aureus [5].

Стафілококові отруєння викликаються ендотоксинами (дермонекротоксин, ентеротоксин, гемолітичний та летальний токсин), які виробляють ентеротоксигенні Staphylococcus aureus (St. aureus) [1, 5, 12].

Масштаби дії збудників токсикозів за останні роки розширилися. Поширення їх в навколишньому середовищі і різке збільшення захворювань, причинами яких є, і, патогенні стафілококи, пов'язані із змінами їх біологічних властивостей [5].

У порівнянні з іншими коками патогенні стафілококи, а саме St. aureus, більш стійкі до дії бактерицидних речовин; особливою стійкістю відрізняються їхні токсини [1]. При температурі до 4+6⁰С розмноження ентеротоксинів стафілококів затримується, при 10-15⁰С різко зповільнюється, а за температури 20-25⁰С розмноження збільшується в багато разів [2].

Мікробні клітини стафілококів руйнуються під впливом 80⁰С протягом 10

хв., а до заморожування вони стійкі [7]. За даними Ж. П. Павлової і співавторів (1989) ентеротоксигенні стафілококи у сирому молоці не тільки витримували 80-85⁰ С протягом 5-10 хв., але й зберігали достатньо високу енергію росту та непрямі ознаки токсигенності – властивість утворювати лецитовіталазу (лецитиназа) та згортати плазму кроля [8].

Ізолювати золотистий стафілокок з сирого молока та молочних продуктів, що були відібрані на ринках Одещини в продовж 2012 року. Визначити термічну резистентність отриманих культур *Staphylococcus aureus*.

Матеріал та методи дослідження. Дослідженню підлягали 48 зразків молока сирого (13), сир кисломолочний (9), сметана (7), вершки (4), бринза (11), масло (4). Ізоляцію культур золотистого стафілококу проводили згідно затверджених методик [3, 6, 10].

Виділення культур золотистого стафілококу з досліджуваних зразків проводили за допомогою середовища накопичення селективного сольового бульйону (з вмістом 8,5% NaCl), з послідуочим висівом на щільні середовища: жовтково-сольовий агар і агар Бейрд Паркера.

Ідентифікацію виділених культур проводили за: морфологічними та тінкторіальними ознаками, біохімічними властивостями, зокрема, вивчали цукролітичні властивості в анаеробних умовах (ферментація глюкози, мальтози та маніту), гемолітичні та плазмокоагулюючі властивості, наявність ферментів лецитовіталази (лецитинази), каталази і дезоксирибонуклеази та пігментотворення, а також фібринолітичну активність.

Результати досліджень. Із 48 дослідних проб в 11 було виділено культури *St. aureus*, і лише 7 культур стафілококів віднесли до патогенних. Культури мали наступні властивості: забарвлювались позитивно за методом Грама, мали форму коків, що розміщені скупченнями у вигляді китиць, культури володіли властивістю утворювати каталазу, лецитиназу, жовтий пігмент, зброджувати з утворенням кислоти (та газу) в анаеробних умовах глюкозу, мальтозу та маніт; містили термонуклеазу (ДНК-аза) і згортати плазму кроля; були фібринолітично активні; утворювали α - і β - гемоліз на МПА з 5% вмістом крові вівці.

7 культур патогенних стафілококів перевірили на термічну стійкість за 65⁰ С, 75⁰ С, 85⁰ С, 95⁰ С протягом 30 сек., 5хв, 10 хв, 20, 30 та 35 хв. Для цього, помістили у електричну водяну баню пробірки із змивними рідинами добових агарових культур, що містили 1 млн. мікробних клітин [4].

Всього за період визначення терморезистентності було досліджено 336 культур *St. aureus* за різними умовами температурного режиму.

Після термічної обробки, у досліджуваних культур повторно визначали біологічні, в тому числі, деякі патогенні властивості.

Результати термічної резистентності культур *St. aureus* для порівняння з наступним їх визначенням біологічних властивостей наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Результати визначення патогенних ознак культур *St. aureus* після термічної обробки, n=7

Умови знезараження		Патогенні властивості									
Температура, °С	Експозиція, хв	Коагулаза		Гемолізін		ДНК-аза		Фібринолізін		Патогенність на мишенях	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
65	20	7	100	7	100	7	100	7	100	7	100
	30	7	100	7	100	7	100	7	100	7	100
	35	7	100	7	100	7	100	7	100	7	100
75	10	7	100	5	71,4	7	100	6	85,7	7	100
	20	6	85,7	4	57,1	6	85,7	4	57,1	7	100
	30	6	85,7	3	42,9	3	42,9	3	42,9	5	71,4
85	5	7	100	3	42,9	2	28,6	3	42,9	6	85,7
	10	5	71,4	3	42,9	2	28,6	3	42,9	6	85,7
	20	1	1,4	2	28,6	2	28,6	2	28,6	4	57,1
95	0,5	3	42,9	3	42,9	2	28,6	3	42,9	3	42,9
	5	2	28,6	2	28,6	1	1,4	1	1,4	1	1,4
	10	1	1,4	1	1,4	0	0	0	0	1	1,4

Морфологічні та тінкторіальні ознаки, а також біохімічні характеристики залишилися сталими. Властивість культур стафілококів утворювати пігмент, лецитовителазу та каталазу залишилася у 100 % культур за 85⁰ С протягом 10 хв.

Повна інактивація стафілококових клітин вже спостерігалась у п'яти культурах (71,4 %) за температури 95⁰ С після 5 хв. прогрівання.

Дані таблиці 1, свідчать про те, що через 20 хв. за температури 75⁰ С культури втратили властивість продукувати коагулазу та ДНК-азу (1,4 %),

гемолізін та фібринолізін (42,9 %), при цьому зберігалась патогенність при пробі на мишенятах (100 %).

Після прогрівання за температури 85⁰ С протягом 20 хв. виникала втрата ензиму коагулази у 6 (85,7 %) культурах, у 71,4 % культур – втрата гемолізіну, ДНК-ази та фібринолізіну; проте патогенність по відношенню до мишей становила у 57,1 % культур. Відмічали стійкість у трьох (42,9 %) культурах до температури 95⁰ С протягом 30 сек., що було доказом наявності п'яти патогенних ознак.

Таким чином, під час вивчення терморезистентності патогенних стафілококів відмітили, що за температури 95⁰ С протягом 10 хв. з семи культур одна (1,4 %) виявилась стійкою і зберегла три властивості патогенності з п'яти.

Висновки. Результати досліджень показують, що проби молока та молокопродуктів містять коагулазопозитивні стафілококи з патогенними властивостями, які мають стійкість до термічної обробки. Найвищою температурною точкою, яку витримували виділені культури протягом 10 хв., була точка 95⁰ С. Культури зберігали у 1,4 % патогенні властивості. Найнижчою точкою температури, при якій втрачались деякі патогенні властивості стафілококів була 75⁰ С за 20 хв. Оптимальними умовами знезараження патогенних стафілококів встановлено - 85⁰ С при експозиції 20 хв.

Список літератури.

1. Бергілевич О.М. Мікробіологія молока і молочних продуктів з основами ветеринарно-санітарної експертизи / О.М. Бергілевич, В.В. Касянчук, В.З. Салата та ін. : Навч. посібн. [за ред. Касянчук В.В.]. – Суми : Університет. Книга, 2010. – С. 77-81.
2. Будагян Ф.Е. Пищевые токсикозы, токсикоинфекции и их профилактика / Ф.Е. Будагян : Москва, «Медицина», -1972. -213с.
3. Ивченко В. М. Методические рекомендации. Лабораторная диагностика стафилококковых инфекции / В. М. Ивченко. - Кишинев. : Тимнул, 1980. - 20с.
4. Карташова В.М. Индикация патогенных бактерий в молоке и молочных продуктах / В.М. Карташова. - М. : Колос, 1973. -224с
5. Касянчук В. Основні закономірності обмінення молока золотистим стафілококом / В. Касянчук, Я. Крижанівський та ін. // Ветеринарна медицина України, 2003. - №10. - С. 43-45.
6. Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Готування досліджуваних проб, вихідної суспензії та десятикратних розведень для мікробіологічного дослідження. Частина 1. Загальні правила готування вихідної суспензії та десятикратних розведень (ISO 6887-1:1999, IDT) : ДСТУ ISO 6887-1:2003. – [Чинний від 2004-10-01]. – К. : Держспожистандарт України, 2005. – 10с.
7. Минор Т.Е. Стафилококки в пищевых продуктах / Т. Е. Минор, Е. Х. Март. -М. : Пищевая промышленность, 1980. - 232с.

8. Павлова Ж.П. Обсемененность сырого молока токсигенным стафилококком и его устойчивость при пастеризации / Ж.П. Павлова, В.П. Дедюхина, И. С. Ляхова // Вопр. питания. -1989. -№1. - С. 67-68.

9. Петровский К.С. Гигиена питания / К.С. Петровский, В.Д. Ванханен . - М. : Медицина. -1982. -528с.

10. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества *Staphylococcus aureus*: ГОСТ 10444.2-94. -[Чинний в Україні від 1998-01-01]. – К.. : Госуд. Комитет Укр. по вопросам технич. регулирования и потребит. политики, 2003. -11с.

11. Эпидемиология и иммунология бактериальных и вирусных инфекций. Кишинёв. «Штиинца»: -1981. -148с.

12. Якубчак О. М. Ветеринарно-санітарна експертиза з основами технології і стандартизації продуктів. / О. М. Якубчак, В. І. Хоменко, С. Д. Мельничук та ін.; за ред. О. М. Якубчак, В. І. Хоменко [2-ге вид., випр., доп.] - Київ, 2005. -800с.

Определение терморезистентности культур *Staphylococcus aureus* изолированных из молока и молочных продуктов. Тимченко О.В.

*В статье приведены результаты бактериологических исследований сырого молока и молочных продуктов с целью выделения культур *Staphylococcus aureus* с патогенными свойствами и определение их резистентности к высоким температурам. Результаты исследований указывают, что самая высокая точка температуры на водяной бане, в которой оказались устойчивы культуры патогенных стафилококков - 1,4%, это 95⁰ С в течение 10 мин., у них сохранились три свойства патогенности из пяти.*

Ключевые слова: молоко, молочные продукты, *Staphylococcus aureus*

Definition of cultures thermoresistance *Staphylococcus aureus* isolated from milk and of milk products. Timchenko O.V.

*The paper presents the results of the determination of resistance to high temperatures of pathogenic *Staphylococcus aureus*, isolated from milk and milk products. These studies show that the highest temperature in water bath at which the of culture of pathogenic staphylococci (1,4%) were resistant and saved three of the five properties of pathogenicity - is 95⁰ C for 10 minutes.*

Key words: milk, milk products, *Staphylococcus aureus*